



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
MAURÍCIO ROSA MAGRO

**RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA A INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E PULVERIZAÇÃO DE BIOESTIMULANTE**

CURITIBANOS
2018

MAURÍCIO ROSA MAGRO

**RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA A INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E PULVERIZAÇÃO DE BIOESTIMULANTE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Agronomia, do Centro de
Ciências Rurais, do campus de Curitibanos
da Universidade Federal de Santa Catarina
como requisito para a obtenção do Grau de
Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof^a. Ph. D. Sonia Purin da Cruz

Curitibanos

2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Magro, Maurício Rosa
RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA A INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E PULVERIZAÇÃO DE BIOESTIMULANTE
/ Maurício Rosa Magro ; orientador, Sonia Purin da Cruz ,
2018.
32 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2018.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Coinoculação. 3. Bioestimulante. 4.
Pseudomonas. 5. Bacillus . I. , Sonia Purin da Cruz. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Agronomia. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia
Rodovia Dlyasse Gaboardi, Km3
CP: 101 CEP: 89520-000 Curitiba - SC
TELEFONE (341) 3721-2173 E-mail: agronomia.cba@contato.ufsc.br

MAURÍCIO ROSA MAGRO

**RESPOSTA DA CULTURA DA SOJA A INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E PULVERIZAÇÃO DE
BIOESTIMULANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao
Colegiado do Curso de Agronomia, do Campus de
Curitiba da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito para obtenção do título de Bacharel em
Agronomia.

Orientador: Sonia Purin da Cruz

Data da defesa: 08 de junho de 2018

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:

Presidente e Orientador: Sonia Purin da Cruz
Titulação: Ph.D.
Área de concentração: Microbiologia Ambiental e Aplicada
Instituição: UFSC – Campus Curitiba

Membro Titular: Priscila Stocco Theodoro
Titulação: Mestre
Área de concentração: Ciência do Solo
Instituição: UDESC

Membro Titular: Ana Carolina Lovatel
Titulação: Mestre
Área de concentração: Ciência do Solo
Instituição: UDESC

Local: Universidade Federal de Santa Catarina
Campus de Curitiba

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me abençoar com saúde, força, discernimento, e inteligência para enfrentar esta batalha.

A minha mãe Cely Aparecida Rosa que esteve presente em todos os momentos bons ou ruins pelos quais passei. E ainda pelo incentivo, conselhos, e por tudo que fez por mim.

A minha avó Maria Martins Varela, minha segunda mãe, por fazer parte de minha vida e por todos os cuidados desde o meu nascimento.

Ao meu avô Sonipo Rosa, por me ensinar a trabalhar e despertar em mim o gosto pela agropecuária. E por todo o auxílio para que eu pudesse realizar este sonho.

Ao meu pai Sadi Magro que mesmo distante sempre me deu apoio e conselhos para eu seguir a diante.

Ao meu irmão Guilherme Rosa Schwarz e demais membros da família Rosa pela ajuda, confiança, e por sempre me apoiarem nesta caminhada.

Ao Sr. Rivaldo de Almeida por todo o auxílio e incentivo a minha graduação.

Ao Sr. Francisco Souza Andrade, que prontamente me disponibilizou a área.

A minha orientadora professora Dra. Sonia Purin da Cruz, pela confiança, incentivo, paciência, conselhos, e conhecimentos compartilhados.

A Total Biotecnologia pelo projeto de extensão durante três anos de minha graduação. A oportunidade de aprendizado, a bolsa de extensão e todo o auxílio financeiro para execução dos trabalhos.

Aos colegas de projeto que auxiliaram na execução deste trabalho; José Filipe dos Santos Maciel, Joatan Césare Andrades Clamer, Ana Rosa França, Ezequiel Kleinschmitt e Gustavo Benincá.

A universidade Federal de Santa Catarina - Campus de Curitibanos pela valiosa contribuição a minha vida.

A todos os professores e servidores da UFSC que auxiliaram na minha formação acadêmica.

E a todos que de alguma forma estiveram presentes nesta etapa de minha vida.

Muito obrigado.

RESUMO

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e bioestimulantes surgem na agricultura brasileira como uma alternativa ao cultivo da soja, para aumentar a produtividade, minimizar danos por estresses abióticos, e promover maior resistência a fitopatógenos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta da soja a inoculação pós-emergência de diferentes espécies rizobacterianas, associadas ou não à pulverização de bioestimulante nos estádios V3 e R1 da cultura, em relação a parâmetros de nodulação, crescimento e produtividade. O experimento foi implantado no município de Brunópolis-SC, em condições de campo durante a safra 2016-2017. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 5 repetições. Os tratamentos testados foram: T1 - inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*; T2 - coinoculação com *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense*; T3 - coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* + *Pseudomonas fluorescens*; T4 - coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* + *Bacillus subtilis*; T5 - T1 + bioestimulante; T6 - T2 + bioestimulante; T7 - T3 + bioestimulante; T8 - T4 + bioestimulante. Todos os produtos foram fornecidos pela Empresa Total Biotecnologia. Os inoculantes foram aplicados no estágio V2 da cultura, e o bioestimulante nos estádios V3 e R1. Foram identificadas diferenças estatísticas entre os tratamentos avaliados. Entretanto, as variáveis número de nódulos com média geral de 10,76 nódulos pl^{-1} , matéria seca de nódulos com média geral de 145 mg pl^{-1} , matéria seca da parte aérea com média geral de 7,96 g pl^{-1} , não apresentaram diferença estatística frente aos tratamentos avaliados. A produtividade obtida no T3 (3489 kg ha^{-1}), T4 (2899 kg ha^{-1}), T5 (2924 kg ha^{-1}), T6 (3070 kg ha^{-1}), e T7 (3317 kg ha^{-1}) foram iguais estatisticamente entre si. Porém estes tratamentos foram superiores aos valores encontrados no T1 (2405 kg ha^{-1}), T2 (2541 kg ha^{-1}) e T8 (2615 kg ha^{-1}). Dentro das condições estudadas a coinoculação de plantas de soja com *A. brasilense*, *P. fluorescens*, *B. subtilis* e pulverização de bioestimulante influenciam a produtividade de grãos.

Palavras-chave: Coinoculação. Bioestimulante. *Azospirillum*. *Pseudomonas*. *Bacillus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área experimental localizada em Brunópolis-SC; (a) Plantas de soja no estágio V2; (b) Plantas de soja no estágio V4; (c) Plantas de soja no estágio R2; (d) Nodulação de planta de soja no estágio R2 (e) Plantas de soja no estágio R 7.2; (f) Plantas de soja no estágio R 8.2.....	12
Figura 2. Produtos utilizados no experimento. (a) <i>Bradyrhizobium japonicum</i> ; (b) <i>Azospirillum brasilense</i> ; (c) <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; (d) <i>Bacillus subtilis</i> (e) Bioestimulante Stamina® (f) Pulverizador utilizado nos procedimentos de inoculação e pulverização.	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos resultados da análise física e química do solo da área do experimento.....	11
Tabela 2. Descrição dos tratamentos avaliados no experimento.	13
Tabela 3. Médias das variáveis de nodulação da soja em função de diferentes tratamentos de inoculação. Brunópolis, SC, safra 2016/2017.....	16
Tabela 4. Resultado das variáveis da parte aérea das plantas de soja. Brunópolis, SC, safra 2015/2016.	17
Tabela 5. Resultado das variáveis relacionadas à produtividade da soja. Brunópolis, SC, safra 2016/2017.	17

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAL E MÉTODOS	11
3 RESULTADOS	16
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	26
ABSTRACT	27
REFERÊNCIAS	28
ANEXO A	32
ANEXO B	32
ANEXO C	33

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é o grão produzido em maior quantidade pela agricultura brasileira. É considerada atualmente como a maior fonte de proteína utilizada na formulação de ração animal, e importante componente de produtos destinados à alimentação humana (PASTORE, 2016). Segundo dados da CONAB (2018) a área cultivada no Brasil com a oleaginosa na safra 2016-2017 foi de 33,9 milhões de hectares, atingindo uma produtividade média de 3362 kg ha⁻¹.

Atualmente, existe uma crescente busca por tecnologias que incrementem a produtividade da cultura da soja, minimizem danos por estresses abióticos, e ofereçam maior resistência a fitopatógenos, causando o menor impacto ambiental possível.

Desta forma, as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP) surgem como uma alternativa frente aos problemas apontados. Dentre as principais RPCP estudadas estão espécies pertencentes a gêneros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum* entre outras (GRAÇAS et al. 2015). A ação das RPCP ocorre de forma direta ou indireta. A forma direta compreende a produção de compostos que funcionam como reguladores vegetais, fixação de nitrogênio, síntese de sideróforos, solubilização de fósforo, e aceleração dos processos de mineralização (PERSELLO-CARTIEAUX; NUSSAUME; ROBAGLIA, 2003; GRAÇAS et al. 2015). Já a forma indireta compreende a indução de resistência sistêmica nos vegetais, aumento da tolerância a estresses abióticos, produção de antibióticos e antagonismos a fitopatógenos (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI, 2003; DONZELI, 2006; GRAÇAS et al. 2015).

Resultados consistentes foram encontrados por Hungria et al. (2015) quando os autores realizaram avaliação da coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja em quatro locais diferentes do Brasil. Os dados mostram que a produtividade foi incrementada cerca de 7,5% em Londrina, 18,5% em Ponta Grossa, 6,5% em Rio Verde e 5,48% em Cachoeira Dourada.

Argaw (2012) desenvolveu experimento na Etiópia para avaliar a solubilização de fosfato por *Pseudomonas spp.* na cultura da soja, e encontrou resultado positivo. Incremento de 26% na produtividade foi registrado pelo autor, em comparação a testemunha sem aplicação de adubação fosfatada. Já no trabalho de Fiqueni et al. (2011) realizado na Argentina com soja, incrementou a massa seca de nódulos em

10%, porém a produtividade não foi afetada pela coinoculação de *P. fluorescens* ou *Pseudomonas chlororaphis* juntamente com *B. japonicum*.

Araújo e Hungria (1999) avaliaram a coinoculação de *B. japonicum* com *B. subtilis* e não obtiveram diferença estatística com os resultados de nodulação ou produtividade. Da mesma forma Marinković et al. (2016) avaliaram na Sérvia, os mesmos tratamentos, e a coinoculação com *B. subtilis* resultou em uma queda de produtividade de 144 kg ha⁻¹ em comparação a inoculação tradicional com *B. japonicum*. Entretanto Schäfer (2017) inoculou *B. subtilis* isolado na semente e obteve incremento de produtividade de 360 kg ha⁻¹ em relação à testemunha.

Outra alternativa são os bioestimulantes. Estes produtos possuem como base substâncias naturais ou microrganismos que melhoram a eficiência nutricional, as respostas aos estresses abióticos, à produtividade e qualidade dos cultivos, sem levar em conta o seu conteúdo nutricional. As possíveis fontes para composição de bioestimulantes podem ser ácidos húmicos e fúlvicos, hidrolisados proteicos e outros compostos nitrogenados como aminoácidos, extrato de algas e de plantas, fungos e bactérias benéficas e polímeros como a quitosana (DU JARDIM, 2015; MÓGOR, 2017).

Lambais (2011) realizou experimento em vasos, e avaliou a aplicação foliar de dois produtos a base de aminoácidos em plantas de soja. O primeiro composto por 15 aminoácidos e o segundo composto por 17 aminoácidos. O autor, porém, não encontrou diferença estatística ao comparar a aplicação dos produtos com a adubação química com NPK.

Trabalhos avaliando a coinoculação de *P. fluorescens* ou *B. subtilis* aplicados em conjunto com *B. japonicum* e *A. brasilense*, ou então em associação com bioestimulantes à base de aminoácidos são inexistentes na literatura.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta da cultura da soja a parâmetros de nodulação, crescimento e produtividade, em relação à inoculação pós-emergência de bactérias promotoras de crescimento e pulverização de bioestimulante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em parceria entre a Universidade Federal de Santa Catarina Campus Curitibanos, e as empresas Total Biotecnologia (Curitiba-PR) e Cultivar insumos agrícolas (Curitibanos-SC).

O experimento foi implantado na safra agrícola 2016 - 2017 em propriedade particular no interior do município de Brunópolis - SC, na localidade de Rio dos Touros, entre as coordenadas geográficas “27°20’50.82” de latitude Sul e “50°50’41.36” de longitude Oeste, em altitude de 915 m. O clima da região é classificado como Cfb - temperado úmido com verões amenos, segundo a classificação de Köppen (ALVARES et al. 2013). O solo da área experimental segundo EMBRAPA (2004) é caracterizado como Cambissolo Álico Tb A proeminente com textura muito argilosa. O local (Figura 1) foi desflorestado em 2010 e recebeu o cultivo de feijão durante dois verões consecutivos, não sendo utilizado durante os meses de inverno. A área desde 2013 encontrava-se em pousio, recoberta por gramíneas nativas. Suas características físicas e químicas encontram-se na Tabela 1. Após a escolha do local adequado, a área foi cercada por arame farpado, e totalizou 2000 m².

Tabela 1. Caracterização dos resultados da análise física e química do solo da área do experimento.

Atributo	Valor
pH (Água)	4,5
Ca (Cmol _c dm ³)	2,5
Mg (Cmol _c dm ³)	0,4
Al (Cmol _c dm ³)	3,4
H+Al (Cmol _c dm ³)	8,01
K (mg dm ³)	80,0
P (mg dm ³)	3,2
Zn (mg dm ³)	1,1
Cu (mg dm ³)	7,8
Mn (mg dm ³)	27,1
Fe (g dm ³)	> 5,0
M.O. (g dm ³)	3,7
CTC (Cmol _c dm ³)	11,10
SB (Cmol _c dm ³)	3,10
V %	27,87
Argila	51,4
Areia	4,0
Silte	44,6

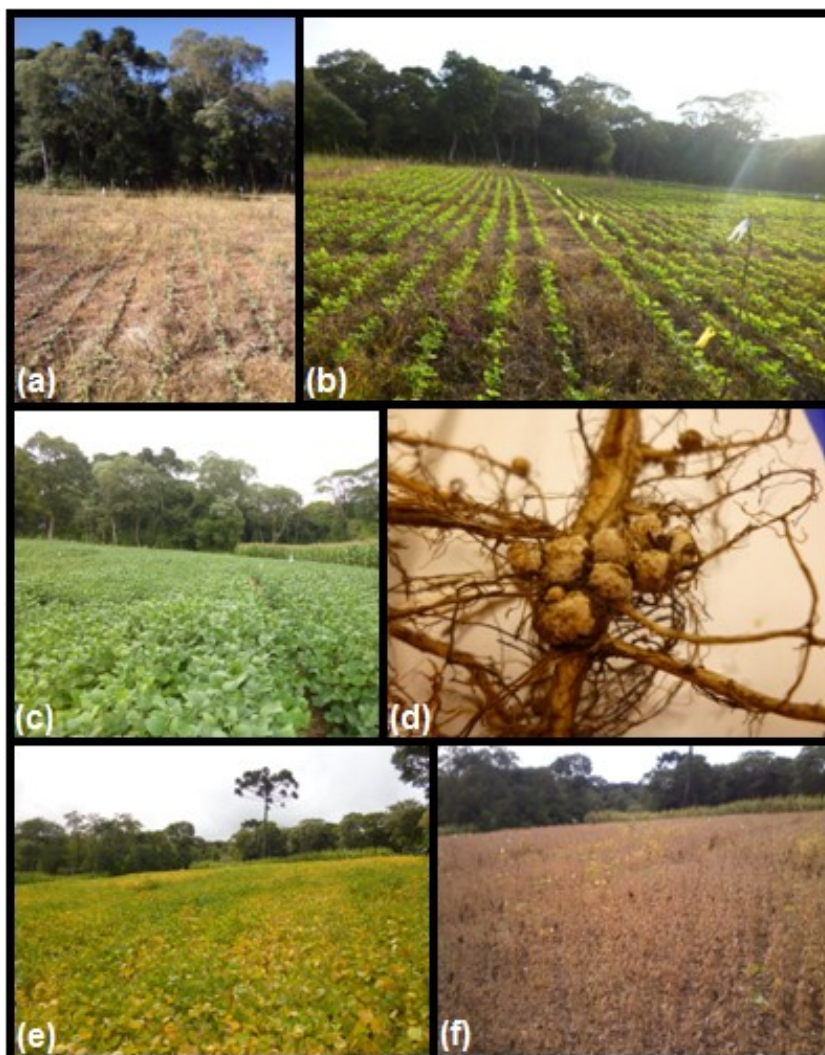


Figura 1. Área experimental localizada em Brunópolis-SC; (a) Plantas de soja no estágio V2; (b) Plantas de soja no estágio V4; (c) Plantas de soja no estágio R2; (d) Nodulação de planta de soja no estágio R2 (e) Plantas de soja no estágio R 7.2; (f) Plantas de soja no estágio R 8.2.

No processo de dessecação anteriormente a semeadura foram realizadas duas pulverizações. A primeira foi realizada 10 dias antes, com os herbicidas Roundup® (glifosato 360 g/L) + Verdict® (Haloxifope-p-metílico 120 g/L), e a segunda 2 dias antes, com Tocha® (Paraquate 200 g/L). Na dessecação pós-emergência da cultura foi utilizado Roundup® (glifosato 360 g/L), e ainda 3 aplicações no decorrer do ciclo com o fungicida Priori Xtra® (Azoxistrobina 200 g/L + Ciproconazol 80 g/L) e o inseticida Engeo Pleno® (Tiametoxam 141 g/L + Lambda Cialotrina 106 g/L). Todos os agroquímicos foram aplicados manualmente com pulverizador costal.

A adubação foi realizada em duas etapas, na base e em cobertura. Na base foi utilizado o adubo mineral 03 - 30 -15 em uma dose de 400 kg ha⁻¹. Já em cobertura utilizou-se 160 kg ha⁻¹ de KCl aos 30 DAE. A aplicação final de NPK totalizou respectivamente 12 kg ha⁻¹ de N, 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 150 kg ha⁻¹ de K₂O.

A cultivar utilizada na semeadura foi Nidera 5909RG, pertencente ao grupo de maturação 6.2, com crescimento indeterminado e flor roxa. As sementes foram previamente tratadas com fungicidas e inseticidas. A semeadura foi realizada com semeadora mecânica de 5 linhas e a população final de plantas na colheita atingiu 240.000 plantas ha⁻¹.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 8 tratamentos e 5 repetições. Cada repetição constituiu uma parcela de 7,5 m de largura por 4 m de comprimento, totalizando uma área útil de 19,5 m². O espaçamento entre blocos foi de 1m, e entre parcelas 0,5 m. Os tratamentos avaliados foram: T1) *Bradyrhizobium japonicum*; T2) *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense*; T3) *B. japonicum* + *A. brasilense* + *Pseudomonas fluorescens*; T4) *B. japonicum* + *A. brasilense* + *Bacillus subtilis*; T5) T1 + Bioestimulante; T6) T2 + Bioestimulante; T7) T3 + Bioestimulante; T8) T4 + Bioestimulante.

A descrição dos tratamentos esta compreendida na Tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos avaliados no experimento.

Tratamento	Produto	Dose/150L calda	Modo de aplicação	Ocasião de aplicação
1	<i>B.japonicum</i>	1000mL	- Jato dirigido na base da planta;	Estádio V2;
2	<i>B. japonicum</i> <i>A. brasilense</i>	1000mL 300mL	- Jato dirigido na base da planta;	Estádio V2;
3	<i>B. japonicum</i> <i>A. brasilense</i> <i>P. fluorescens</i>	1000mL 300mL 300mL	- Jato dirigido na base da planta;	Estádio V2;
4	<i>B. japonicum</i> <i>A. brasilense</i> <i>B. subtilis</i>	1000mL 300mL 300mL	- Jato dirigido na base da planta;	Estádio V2;
5	<i>B.japonicum</i> Bioestimulante	1000mL 300mL	- Jato dirigido na base da planta; - Pulverização foliar;	Estádio V2; Estádio V3;R1;
6	<i>B. japonicum</i> <i>A. brasilense</i> Bioestimulante	1000mL 300mL 300mL	- Jato dirigido na base da planta; - Pulverização foliar;	Estádio V2; Estádio V3;R1;
7	<i>B. japonicum</i> <i>A. brasilense</i> <i>P. fluorescens</i> Bioestimulante	1000mL 300mL 300mL 300mL	- Jato dirigido na base da planta; - Pulverização foliar;	Estádio V2; Estádio V3;R1;
8	<i>B. japonicum</i> <i>A. brasilense</i> <i>B. subtilis</i> Bioestimulante	1000mL 300mL 300mL 300mL	- Jato dirigido na base da planta; - Pulverização foliar;	Estádio V2; Estádio V3;R1;

Todos os produtos utilizados no experimento (Figura 2) foram disponibilizados pela empresa Total Biotecnologia, com sede no município de Curitiba, no Paraná.

O inoculante à base de *B. japonicum* é um produto comercial, sob registro perante o MAPA nº 93923 10075-0, contendo as estirpes SEMIA 5079 e 5080, e concentração de $(5,5 \times 10^9 \text{ UFC/ mL})$. Já o inoculante à base de *A. brasilense* possui registro nº PR-93923 10074-1, contendo as estirpes *A. brasilense* estirpes AbV5 e AbV6 e concentração de $(2,0 \times 10^8 \text{ UFC/ mL})$.

Os inoculantes a base de *P. fluorescens* e *B. subtilis* são produtos pré-comerciais que encontram-se em fase de testes para registro, ambos possuem concentração de $1,0 \times 10^7 \text{ UFC/ml}$.

O produto bioestimulante Stamina® apresenta registro no MAPA nº PR-93923 10095-4. Possui em sua composição 24 aminoácidos provindos da atividade fermentativa de microrganismos, e seu uso está relacionado a aumentar a resistência das plantas em momentos de estresse.



Figura 2. Produtos utilizados no experimento. (a) *Bradyrhizobium japonicum*; (b) *Azospirillum brasilense*; (c) *Pseudomonas fluorescens*; (d) *Bacillus subtilis* (e) Bioestimulante Stamina® (f) Pulverizador utilizado nos procedimentos de inoculação e pulverização.

No estágio R2 da cultura realizou-se uma coleta de plantas para avaliar a nodulação, matéria seca da parte aérea e nitrogênio foliar. A amostragem foi executada com pá de corte, retirando-se dez plantas aleatoriamente de cada parcela, respeitando 1m de cada extremidade. As plantas foram acondicionadas em sacos de rafia e levadas ao laboratório de Microbiologia da UFSC - Campus Curitibanos.

No laboratório inicialmente as raízes foram lavadas com água corrente, em seguida separadas da parte aérea sendo cortadas no ponto de inserção dos cotilédones. A parte aérea foi acomodada em pacotes de papel pardo e levada a estufa de circulação forçada com temperatura média de 65°C. Após a secagem até massa constante, as amostras foram pesadas em balança semi-analítica, moídas, e posteriormente encaminhadas à análise de nitrogênio foliar, com base no livro *“Análise de solo, plantas e outros materiais”* (Tedesco *et al.*, 1995).

Os nódulos foram retirados das raízes para determinar primeiramente o número total de nódulos, posteriormente foram passados em uma peneira de malha 2 mm. Os nódulos maiores que 2 mm retidos foram contados e divididos ao meio para avaliar sua viabilidade pela coloração rosa - avermelhada, determinando-se assim o número de nódulos viáveis. Todos os nódulos de cada planta foram colocados em pacotes de papel pardo e levados à estufa de circulação forçada com temperatura média de 65°C, até atingirem massa constante. Após a secagem, a massa seca de nódulos (mg/planta) foi determinada em balança analítica.

A análise de produtividade foi realizada na maturação plena da cultura. Foram coletadas todas as plantas dentro de 8 metros de cada parcela, respeitando-se 1m de cada extremidade. As plantas colhidas foram contadas e posteriormente submetidas à trilha em um batedor de grãos.

Os grãos de cada parcela foram pesados, e uma quantidade entre 100-200g foi acondicionada em pacotes de papel pardo para determinar a umidade. As amostras foram levadas ao laboratório e colocadas em estufa de circulação forçada com temperatura aproximada de 65°C, onde permaneceram até atingir massa constante. Os valores de produtividade (Kg ha^{-1}) foram corrigidos para 13% de umidade.

Após este processo foi realizado a determinação da massa de 1000 grãos de cada parcela. Em seguida os grãos foram moídos e posteriormente submetidos à análise de nitrogênio, da mesma forma que a parte aérea das plantas.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e os que apresentaram significância foram conduzidos ao teste de Scott Knott ($p < 0,05$), com o auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 2003).

3 RESULTADOS

A partir dos resultados é possível observar que não ocorreu efeito dos tratamentos com *A. brasilense*, *P. fluorescens*, *B. subtilis* e o bioestimulante com as variáveis número de nódulos, nódulos >2 mm, nódulos viáveis e massa seca de nódulos (Tabela 3).

Tabela 3. Médias das variáveis de nodulação da soja em função de diferentes tratamentos de inoculação. Brunópolis, SC, safra 2016/2017.

Tratamento	Número de nódulos (n°pl ⁻¹)	Nódulos >2mm (n°pl ⁻¹)	Nódulos viáveis (n°pl ⁻¹)	Massa de nódulos secos (mg pl ⁻¹)
BJ	12,45 ^{ns}	9,83 ^{ns}	9,79 ^{ns}	190,48 ^{ns}
BJ+AB	4,04	3,66	3,54	73,72
BJ+AB+PF	14,75	10,37	10,29	184,16
BJ+AB+BS	9,20	8,16	7,66	120,97
BJ+BIO	12,24	10,62	10,25	199,13
BJ+AB+BIO	13,33	8,12	7,87	127,82
BJ+AB+PF+BIO	12,41	10,50	10,16	158,32
BJ+AB+BS+BIO	7,70	6,83	6,62	111,47
CV(%)	59,53	45,21	45,40	48,70

^{ns} Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pela ANOVA a 5 e 10% de probabilidade.

BJ-*Bradyrhizobium japonicum*; AB-*Azospirillum brasilense*; PF-*Pseudomonas fluorescens*; BS-*Bacillus subtilis*; BIO-Bioestimulante;

As bactérias promotoras de crescimento e o bioestimulante, assim como nas variáveis de nodulação, não afetaram as variáveis de matéria seca da parte aérea e nitrogênio da parte aérea (Tabela 4).

Tabela 4. Resultado das variáveis da parte aérea das plantas de soja. Brunópolis, SC, safra 2015/2016.

Tratamento	Matéria seca da parte aérea (g pl ⁻¹)	Nitrogênio da parte aérea (g kg ⁻¹)
BJ	8,01 ^{ns}	2,58 ^{ns}
BJ+AB	7,80	2,65
BJ+AB+PF	8,68	2,55
BJ+AB+BS	8,40	2,49
BJ+BIO	7,56	2,52
BJ+AB+BIO	8,46	2,26
BJ+AB+PF+BIO	7,34	2,67
BJ+AB+BS+BIO	7,47	2,52
CV(%)	16,42	10,97

¹Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pela ANOVA a 5 e 10% de probabilidade.

BJ-*Bradyrhizobium japonicum*; AB-*Azospirillum brasilense*; PF-*Pseudomonas fluorescens*; BS-*Bacillus subtilis*; BIO-Bioestimulante;

A produtividade foi afetada pelos tratamentos avaliados (Tabela 5).

Tabela 5. Resultado das variáveis relacionadas à produtividade da soja. Brunópolis, SC, safra 2016/2017.

Tratamento	Produtividade (kg ha ⁻¹)	Massa de 1000 grãos (g)	Nitrogênio Nos Grãos (mg g ⁻¹)
BJ	2405,20 b*	153,63 ^{ns}	51,92 ^{ns}
BJ+AB	2541,95 b	156,32	48,61
BJ+AB+PF	3489,50 a	153,64	52,72
BJ+AB+BS	2899,32 a	155,55	50,75
BJ+BIO	2924,27 a	156,62	51,55
BJ+AB+BIO	3070,35 a	153,18	50,25
BJ+AB+PF+BIO	3317,15 a	150,62	50,50
BJ+AB+BS+BIO	2615,30 b	156,56	51,34
CV(%)	15,86	3,17	6,22

*Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. ^{ns} Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pela ANOVA a 5 e 10% de probabilidade.

BJ-*Bradyrhizobium japonicum*; AB-*Azospirillum brasilense*; PF-*Pseudomonas fluorescens*; BS-*Bacillus subtilis*; BIO-Bioestimulante;

A média do T1 (*B. japonicum*) foi inferior estatisticamente ao T5 (*B. japonicum* + bioestimulante). Este último apresentou aumento de 519 kg ha⁻¹ comparado com a aplicação do inoculante em pulverização isoladamente.

A coinoculação realizada no T2 (*B. japonicum*, *A. brasilense*) não resultou em aumento de produtividade, sendo igual estatisticamente ao obtido com a pulverização do rizóbio isoladamente. Já no T6 (*B. japonicum*, *A. brasilense* e pulverização do bioestimulante), o resultado foi positivo, com aumento de 529 kg ha⁻¹ em relação ao T2 e 665 kg ha⁻¹ em relação ao T1.

O T3 (*B. japonicum*, *A. brasilense*, e *P. fluorescens*) resultou na maior média de produtividade do experimento (3489 kg ha^{-1}), diferindo estatisticamente do T1 (2405 kg ha^{-1}), onde a inoculação foi realizada apenas com *B. japonicum*. O aumento registrado foi de 1084 kg ha^{-1} . Entretanto, no T7 a inclusão do bioestimulante a coinoculação com *B. japonicum*, *A. brasilense*, e *P. fluorescens* não resultou em aumento de produtividade, comparado ao T3. Porém, manteve-se a diferença estatística em relação a T1, com uma diferença de 912 kg ha^{-1} em relação ao referido tratamento.

Em relação ao T4, no qual se realizou a coinoculação com *B. japonicum*, *A. brasilense*, e *B. subtilis* ocorreu aumento de 494 kg ha^{-1} em comparação ao T1. No entanto, no T8 (2615 kg ha^{-1}), tratamento em que foi pulverizado bioestimulante juntamente com a coinoculação (*B. japonicum*, *A. brasilense*, e *B. subtilis*) a produtividade diminuiu 284 kg ha^{-1} em relação ao T4, e este valor foi igual estatisticamente ao T1.

4 DISCUSSÃO

De forma geral, ocorreu baixa formação de nódulos até o momento da análise realizada no estágio R2, com uma média geral de 10,76 nódulos por planta. Este fato pode estar relacionado ao pH do solo, que para o estabelecimento de bactérias da espécie *B. japonicum* não é ideal. Segundo Hungria e Vargas (2000) a fase inicial de nodulação, momento em que ocorre a comunicação química entre os parceiros, ou seja, exsudação de flavonoides pela leguminosa e síntese dos fatores *nod* pela bactéria, é a etapa mais sensível em relação à acidez do solo. Resultados experimentais revelaram que a expressão dos genes *nod* de estirpes de rizóbio induzida pela exsudação radicular de soja e feijão foi menor em pH 4,5 em comparação ao pH 5,8 em condições controladas (HUNGRIA, STACEY, 1997; FERNANDES JÚNIOR, REIS, 2008). Já Silva et al., (2002) relata, que para obter boa eficiência de bactérias fixadoras no solo, o mesmo deve apresentar pH em torno de 6,5. No presente estudo, o pH foi de 4,5.

Outro fator que pode ter influenciado os resultados de nodulação foi o déficit hídrico ocorrido após o processo de inoculação realizado no estágio V2 da cultura. Ocorreu apenas uma precipitação após o processo, e em seguida foi registrado um período de 21 dias sem a ocorrência de chuvas. Este fato provavelmente dificultou a

percolação das bactérias no perfil do solo, e consequentemente a colonização das raízes. Além disso, o déficit hídrico é responsável por desencadear uma série de respostas fisiológicas e anatômicas nas plantas, como diminuição da emissão de pelos radiculares, descontinuidade da síntese de leghemoglobina e abortamento de nódulos (GOORMACHTIG et al., 2014; FERNANDES JÚNIOR, REIS, 2008).

Trabalhos realizados com a mesma forma de inoculação do presente experimento são raros na literatura. Entretanto, Magro et al (2016) avaliaram a coinoculação no estágio V2 da soja, com *B. japonicum* e *A. brasilense* e outro tratamento com *B. japonicum*, *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici*. A nodulação, porém, não foi afetada pelos tratamentos, apresentando média geral de 35 nódulos por planta.

Este resultado corrobora com o obtido por Araújo e Hungria (1999), que avaliaram a coinoculação com *B. japonicum* e *B. subtilis* na semente em dois experimentos conduzidos em Londrina-PR e Ponta Grossa-PR. Os autores não obtiveram resultado positivo nas variáveis de nodulação no estágio R2 da cultura ao adicionar uma RPCP. O mesmo ocorreu no experimento realizado em Colina-SP por Bárbaro et al. (2009), que avaliaram a coinoculação entre *B. japonicum* e *A. brasilense* na semente e não ocorreu aumento nos parâmetros de nodulação em relação a testemunha inoculada somente com *B. japonicum*. Groppa et al. (1999) realizaram estudo em câmara de crescimento com soja, e avaliaram a viabilidade da coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense*. Na avaliação realizada aos 28 DAE não ocorreu diferença estatística na variável número de nódulos em comparação a inoculação tradicional com *B. japonicum*.

Entretanto, Aung et al. (2013) avaliaram na Tailândia, em condições de campo, a coinoculação de *B. japonicum* CB1809 com *Azospirillum* sp. e obtiveram diferença estatística aos 30, 45 e 70 DAE no número de nódulos em relação a inoculação tradicional com *B. japonicum*, registrando aumento de 20 nódulos por planta. Da mesma forma, Drews (2016) comparou três cultivares de soja, sob déficit hídrico, em relação à coinoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* e registrou aumento na nodulação de 43% com a cultivar M8372IPRO e 33% com a cultivar M7739IPRO, porém sem ocorrência de resposta com a cultivar BMX9086IPRO. Já Munhoz (2016) estudou a coinoculação no sulco de semeadura entre *B. japonicum*, *P. fluorescens* e *B. subtilis* em soja. Este tratamento aumentou a nodulação no estágio R2 em oito nódulos por planta, o qual diferiu estatisticamente da inoculação padrão na semente.

Acredita-se que *A. brasilense* esteja relacionado à estimulação da nodulação em leguminosas, incrementando a produção de genes Nod, responsáveis pelo acréscimo de raízes laterais, densidade de pelos radiculares e ramificações de seus pelos (BURDMANN et al., 2000; LIBÓRIO, BÁRBARO, NOBILE, 2015). De acordo com observações durante as análises, estes efeitos não foram observados no presente experimento, ou pelo menos até o momento da análise feita em R1. O pH do solo, elementos tóxicos, morte bacteriana, forma de inoculação, e até mesmo microrganismos nativos podem ter contribuído para a ausência desse efeito esperado.

A influência de bioestimulantes na nodulação da soja ainda é pouco estudada, entretanto, Marks (2013) avaliaram em condições de campo parâmetros de nodulação em soja com a adição de metabólitos derivados de *B. japonicum*, *R. tropici*, e genisteína (flavonóide indutor) adicionados nas sementes. Os tratamentos, porém, não aumentaram o número de nódulos em relação à inoculação padrão com *B. japonicum*. Araújo e Hungria (1999) também avaliaram a aplicação de metabólitos de *B. subtilis* em sementes de soja, e o tratamento com os mesmos não proporcionou valores de nodulação maiores que os observados na testemunha.

É importante ressaltar que a adubação utilizada continha nitrogênio em sua fórmula, sendo este elemento não indicado para a cultura da soja (MANUAL DE CALAGEM E ADUBAÇÃO, 2016). O motivo da utilização deste adubo foi a falta de fórmulas não contendo nitrogênio no comércio local, no final da janela de semeadura. A espécie inclusive é bastante sensível aos fertilizantes nitrogenados, sendo que a adição de 20kg de N/ha na semeadura causa diminuição na nodulação, e queda de até 14% no rendimento de grãos (HUNGRIA et al., 2000; HUNGRIA, CAMPO, MENDES, 2001). Assim, é possível que o uso deste fertilizante tenha afetado a nodulação da soja.

Mesmo com uma baixa quantidade de nódulos, a variável massa seca de nódulos resultou em média geral de 145 mg pl^{-1} . Este valor está de acordo com o observado por Hungria, Campo e Mendes (2001) que descrevem a época do florescimento como momento em que a cultura necessita apresentar entre 100 a 200 mg de nódulos secos por planta para atingir alta produtividade. Como observado no experimento, as plantas provavelmente investiram energia nos poucos nódulos formados para obter o nitrogênio necessário, com isso a massa nodular esteve dentro da média registrada em outros trabalhos.

Neste trabalho a massa seca de nódulos não foi afetada pelas RPCP. Da mesma forma, no trabalho de Magro et al. (2016) não ocorreu efeito dos tratamentos sobre esta variável. Munhoz (2016) não obteve o mesmo resultado na massa como no número de nódulos. A coinoculação com três espécies bacterianas não aumentou estatisticamente esta variável em relação à inoculação padrão na semente. No trabalho de Hungria, Nogueira e Araújo (2015), o qual foi realizado a coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense* nas sementes de soja, a massa seca de nódulos não apresentou aumento significativo em relação à inoculação isolada de *B. japonicum*, nos quatro experimentos implantados.

Porém, resultado positivo quanto à massa seca de nódulos já foi encontrado por Benintende (2010) na Argentina. Nesse experimento o autor registrou aumento de 42% da massa seca de nódulos quando coinoculou sementes de soja com *B. japonicum* e *A. brasilense* em relação à inoculação tradicional. Da mesma forma, Son et al. (2007), no Vietnã, inocularam sementes de soja com *B. japonicum* e *P. fluorescens* e encontraram resultados superiores a inoculação padrão, com números na ordem de 17,5% e 46% de aumento de massa nodular.

A coinoculação com RPCPs e a pulverização do bioestimulante não influenciou o resultado da matéria seca da parte aérea. Esta variável também não apresentou acréscimo no trabalho de Hungria, Nogueira e Araújo (2015), no qual a adição de *A. brasilense* não diferiu da inoculação isolada com *B. japonicum* nos quatro experimentos realizados. Do mesmo modo, Munhoz (2016) não obteve resultado superior em matéria seca da parte aérea ao inocular duas RPCPs (4,79 g pl⁻¹) em relação a inoculação com *B. japonicum* em turfa na semente (5,19 pl⁻¹). Porém, no experimento de Magro et al. (2016), a inclusão das três RPCPs proporcionou um valor que foi significativamente superior em matéria seca da parte aérea (3,24g pl⁻¹) em comparação a inoculação padrão nas sementes (2,45 g pl⁻¹). Incremento em matéria seca da parte aérea de 25% foi encontrado com *P. fluorescens* na Argentina, quando o autor aplicou a referida bactéria com *B. japonicum* na semente e obteve resultado superior a inoculação padrão (FIQUENI, 2011).

A falta de resposta na matéria seca da parte aérea em soja quando adicionado uma RPCP é comum na literatura. A forma de inoculação adotada faz com que os microrganismos atuem principalmente nas raízes primárias, promovendo, sobretudo o crescimento radicular das plantas. A maior exploração do solo pelas raízes pode garantir um maior aporte de água e nutrientes a planta e como consequência causar

maior aumento da matéria seca da parte aérea, fato este que não ocorreu no presente experimento.

Com relação a bioestimulantes a base de aminoácidos, Santos et al. (2015) avaliaram em casa de vegetação a aplicação de um produto a base de aminoácidos em pulverização nos estádios V5 em plantas de soja. O produto utilizado foi obtido a partir de processos controlados de biofermentação do glutamato monossódico. A matéria seca da parte aérea aumentou em 1,48g com a pulverização do produto, em relação a testemunha. Na cultura do milho também já foram realizados estudos. Resultados expressivos de aumento na produção de matéria seca de plantas na ordem de 29% foram registrados por Coelho (2011) quando o mesmo avaliou produtos a base de 2% de aminoácidos.

Os registros literários não corroboram ao resultado obtido em matéria seca da parte aérea deste trabalho. Porém, o produto avaliado não possui a mesma formulação dos anteriores e por consequência pode expressar outro modo de ação na planta, como síntese de proteínas, promover maior resistência ao estresse hídrico, aumentar a tolerância ao ataque de doenças e pragas, entre outros. É importante também salientar a possibilidade de diferentes doses e estágios de aplicação dos produtos promoverem resultados distintos.

A produtividade foi afetada pela coinoculação das RPCPs, entretanto, quando *A. brasilense* foi aplicado juntamente com *B. japonicum* a média de produtividade não diferiu da inoculação isolada de *B. japonicum*. Este resultado já foi observado por Magro et al. (2016), que realizaram a mesma forma de aplicação com as mesmas bactérias, e obtiveram produtividade de 4452 kg ha⁻¹ com *B. japonicum* e *A. brasilense* e de 4136 kg ha⁻¹ com *B. japonicum* isolado. Buscando uma alternativa de inoculação na soja em condições adversas, Hungria, Nogueira e Araujo (2015) testaram a aplicação de *B. japonicum* com *A. brasilense* em pulverização após a semeadura, próximo à linha de semeadura. A partir dos resultados é possível observar que nos três experimentos não ocorreu aumento de produtividade, ou seja, as médias foram iguais à inoculação padrão.

Entretanto, resultados divergentes são observados na literatura. Em seu experimento realizado sob condições de déficit hídrico, Benintende et al. (2010) encontraram resultado positivo ao inocular soja com *A. brasilense*. O aumento de produtividade foi de 118 kg ha⁻¹ em comparação a inoculação tradicional com *B. japonicum*. Outro resultado positivo já mencionado anteriormente foi observado no

trabalho de Hungria et al. (2015), com aumento de produtividade em quatro áreas experimentais ao adicionar *A. brasilense* a sementes de soja. Os valores correspondem a 243 kg ha⁻¹ em Londrina-PR, 167 kg ha⁻¹ em Ponta Grossa-PR, 212 kg ha⁻¹ em Rio Verde-GO, e 565 kg ha⁻¹ em Cachoeira Dourada-GO. No município de Ponte Alta do Norte também foram encontrados bons resultados quanto à coinoculação da soja. Munhoz (2016) encontrou diferença estatística em produtividade ao adicionar *A. brasilense* com *B. japonicum* no sulco de semeadura de 1047 kg ha⁻¹ em relação a inoculação tradicional. O mesmo ocorreu ao adicionar *P. fluorescens* e *B. subtilis*, as quais aumentaram a produtividade em 786 kg ha⁻¹. Já Son et al. (2007) obtiveram aumento de 547 kg ha⁻¹ de grãos ao acrescentar *P. fluorescens* junto a *B. japonicum*. Argaw (2012) registrou aumento de 314 kg ha⁻¹ em grãos de soja quando inoculou *P. fluorescens* e *B. japonicum* sem adição de adubação fosfatada. Afzal et al. (2010), objetivando obter maior disponibilidade de fósforo a plantas de soja, inocularam as sementes com *P. fluorescens*. O resultado mostrou que a adição da bactéria ao cultivo aumentou a produtividade em 208 kg ha⁻¹ em comparação a adubação isolada com P₂O₅. Schäfer (2017) testou, em área com população de *B. japonicum* já estabelecida, a inoculação de forma isolada com *B. subtilis* em sementes de soja. O autor registrou aumento de 360 kg ha⁻¹ de grãos em comparação a testemunha sem inoculação.

Na Sérvia, Ilić et al. (2017) desenvolveram experimento para avaliar a resposta da soja a coinoculação envolvendo *B. japonicum*, *B. subtilis* e *Pseudomonas cloraphis*. A mistura resultou em uma produtividade 400 kg ha⁻¹ superior a inoculação com *B. japonicum* isolado.

É possível que algumas condições do presente experimento causaram a morte ou diminuíram a eficácia de algum grupo de microrganismo usado na coinoculação, comprometendo a resposta esperada. Deve-se ressaltar que a coinoculação é uma técnica com potencial de recomendação e deve ser explorada, já que diversos incrementos de produtividade já foram registrados.

O produto Stamina[®] já foi avaliado em experimento com soja a campo na safra 2015/2016, sendo pulverizado nos estádios V3, R1 e R4. A produtividade no tratamento onde foi aplicado o produto foi de 4729 kg ha⁻¹, que entretanto não diferiu do tratamento sem aplicação, com 4334 kg ha⁻¹ (MAGRO; MACIEL; 2016).

Resultado positivo em produtividade na cultura da soja foi encontrado por Naibo et al. (2015). O produto aplicado via semente na cultura continha 10% de

aminoácidos em sua fórmula, e resultou em incremento de produtividade de 864 kg ha⁻¹ em comparação a testemunha. Aumento de produtividade foi registrado por Coelho (2011) na cultura do milho, em seu estudo conduzido na Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas-MG. Produtos a base de aminoácidos como Humiforte[®], Fosnutren[®] e Kadostim[®] aumentaram a produtividade de grãos em 1560 kg ha⁻¹, 1360 kg ha⁻¹ e 1610 kg ha⁻¹ respectivamente. Na cultura do arroz irrigado também foram encontrados resultados positivos quanto ao uso de aminoácidos. Dario et al. (2014) avaliaram a produtividade de arroz irrigado em dois locais diferentes. Um dos produtos avaliados (AminoPlus[®]) contém em sua composição alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutâmico, glicina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, serina, treonina, triptofano, tirosina e valina. Já o produto Ajifol possui em sua composição 15 aminoácidos, dos quais se destacam o glutamato, alanina, aspartato e valina. A combinação dos dois produtos aumentou a produtividade do arroz em 1735 kg ha⁻¹ e 1211 kg ha⁻¹ em comparação a testemunha sem aplicação.

A pulverização do bioestimulante aumentou a produtividade da soja. Este resultado pode ser observado no tratamento 5, em que o produto foi aplicado de forma isolada com *B. japonicum*, em relação ao tratamento 1. Este incremento corrobora com Mógor (2015) que menciona produtos a base de aminoácidos como suplementares as plantas em condições de estresses ambientais.

Com relação as RPCPs inoculadas, existe uma especificidade bactéria-hospedeiro muito grande em relação aos benefícios que estas podem promover. O efeito produzido por um microrganismo em uma planta, pode não apresentar o mesmo efeito em outras plantas. Tipo de solo e características da região também podem alterar seus efeitos (GRAÇAS, 2015).

Um provável mecanismo de ação promovido pelas RPCPs nesse experimento, ocasionando indiretamente o aumento de produtividade foi produzir ácido indolilacético. Esse hormônio produzido por cerca de 80% das rizobactérias promoveu a proliferação e alongamento das raízes pela divisão celular, e consequentemente facilitou a absorção de água, e nutrientes no solo, que conforme a análise química apresentava baixa saturação de bases. Outro mecanismo que possivelmente se destacou foi a solubilização de fósforo, elemento presente em baixa quantidade na área experimental. Bactérias como *P. fluorescens* e *B. subtilis* são citadas na literatura por possuírem a capacidade de disponibilizar fósforo as plantas através da ação de enzimas fosfatases. Outro mecanismo que pode ter

influenciado foi o antagonismo a microrganismos prejudiciais as plantas. O controle biológico de doenças pelas RPCPs pode ocorrer pela competição por nutrientes e espaço com os patógenos, produção de sideróforos, antibióticos e compostos voláteis.

Não foram avaliados tratamentos de *P. fluorescens* ou *B. subtilis* de forma isolada com *B. japonicum*. Portanto, não é possível afirmar que *A. brasilense* não colaborou com o aumento de produtividade no tratamento 3 ou 4, mesmo com a falta de resposta no tratamento 2. É possível que a junção de duas RPCPs tenha ocasionado um sinergismo, aumentando o potencial de resposta em comparação a inoculação isolada.

A inclusão do bioestimulante com *A. brasilense* e *B. subtilis* não resultou em incremento de produtividade, como nos outros tratamentos. Isso pode ter ocorrido por alguma desordem fisiológica provocada pela mistura dos produtos.

Mesmo com diferenças estatística entre os tratamentos testados, a análise de produtividade deste experimento ficou incompleta. Não é possível afirmar qual componente de produção foi responsável pelo aumento registrado, a exceção da massa de 1000 grãos, que não apresentou diferença nesta avaliação. Podem ter ocorrido resultados positivos em número de vagens por planta ou número de grãos por vagem, variáveis não analisadas nesse trabalho.

Os resultados observados neste experimento reforçam a necessidade de mais estudos. Um exemplo seria a aplicação da mistura destas RPCPs diretamente nas sementes ou no sulco de semeadura, para uma possível recomendação de inoculação viável para agricultura brasileira. Assim como produtos bioestimulantes a base de aminoácidos, existem alguns produtos registrados no Brasil, entretanto poucos trabalhos avaliando o desempenho dos mesmos em condições de estresses ambientais.

5 CONCLUSÃO

Conforme as condições edafoclimáticas e cultivar utilizada, as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas influenciam positivamente a produtividade de grãos.

A pulverização de bioestimulante a base de aminoácidos é uma técnica com potencial de recomendação para o aumento da produtividade de grãos.

ABSTRACT

Plant growth-promoting rhizobacteria and biostimulants consist in an alternative, to increase productivity, minimize damage by abiotic stresses, and promote greater resistance to phytopathogens. The aim of this work was to evaluate the response of soybean to post-emergence inoculation with different rhizobacterial species, associated or not to bioestimulant sprayed at V3 and R1 stages, in relation to nodulation, growth and productivity parameters. The experiment was carried out in the city of Brunópolis-SC, under field conditions during the 2016-2017 harvest. The experimental design was in randomized blocks with 5 replicates. The treatments tested were: T1 - inoculation with *Bradyrhizobium japonicum*; T2 - coinoculation with *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense*; T3 - co-inoculation with *B. japonicum* + *A. brasilense* + *Pseudomonas fluorescens*; T4 - coinoculation with *B. japonicum* + *A. brasilense* + *Bacillus subtilis*; T5 - T1 + biostimulant; T6 - T2 + biostimulant; T7 - T3 + biostimulant; T8 - T4 + biostimulant. All products were supplied by Total Biotecnologia Company. Inoculants were applied at the V2 stage, whereas biostimulant was used at both V3 and R1 stages. Statistical differences between treatments were identified. However, number of nodules (average of 10.76 pl^{-1} nodules), nodule dry matter (average of 145 mg pl^{-1}) shoot dry matter (average 7.96 g pl^{-1}) were not statistically different among treatments. The productivity obtained in T3 (3489 kg ha^{-1}), T4 (2899 kg ha^{-1}), T5 (2924 kg ha^{-1}), T6 (3070 kg ha^{-1}), and T7 (3317 kg ha^{-1}) were not different. However, values from these treatments were higher than those values found in T1 (2405 kg ha^{-1}), T2 (2541 kg ha^{-1}) and T8 (2615 kg ha^{-1}). Under the studied conditions, coinoculation of soybean plants with *A. brasilense*, *P. fluorescens*, *B. subtilis* and spraying of biostimulant influence grain yield.

Key words: Coinoculation. Biostimulant. *Azospirillum*. *Pseudomonas*. *Bacillus*.

REFERÊNCIAS

- AFZAL, A.; BANO, A.; FATIMA, M. Higher soybean yield by inoculation with N-fixing and P-solubilizing bacteria. **Agron. Sustain. Dev.**, v.30, n.2, p.487-495, abr./jun. 2010.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p.711-728, 2013.
- ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. **Pesq. Agrop. Bras.** Brasília, v.34, n.9, p.1633, set. 1999.
- ARGAW, A. Evalution of Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and phosphate solubilizing *Pseudomonas* ssp. effect on soybean (*Glycine max* L. (Mer.)) in Assossa Area. **J.Arg. Sci Tech.** Vol.14 213-224. 2012.
- AUNG, T. T. Enhanced soybean biomass by co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and plant growth promoting rhizobacteria and effects on microbial community structures. **African Journal of Microbiology Research**. v. 29, p. 3858-3873, 2013
- BÁRBARO, I. M. et al. Produtividade da soja em resposta a inoculação padrão e coinoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n.1, Jan-Jun. 2009, p. 01-07.
- BENINTENDE, S.; UHRICH, M.; HERRERA, F.; GANGGE, M.; STERREN, Y.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple com *Bradyrhizobium japonicum* em la nodulación de N em el cultivo de soja. **Agroscientia**, , v. 27, n. 2, p. 71 - 77, 2010.
- BURDMANN, S.; HAMAOU, B. Y OKON, Y. Improvement of legume crop yields by co-inoculation with *Azospirillum* and *Rhizobium*. The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. **The Hebrew University of Jerusalem**, Israel, 2000.
- COELHO, A. M. **Eficiência agrônômica de compostos de aminoácidos aplicados nas sementes e em pulverização foliar na cultura do milho safrinha**. Sete Lagoas: Embrapa milho e sorgo, 2011. 7 p. (Comunicado técnico 192).
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 5 - Safra 2017/18, n.8 - Oitavo levantamento, maio 2018. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 2 mai 2018.
- DARIO, G. J. A.; DARIO, I. S. N.; VAZQUEZ, G. H.; PERES, A. R. Adubação foliar com produtos a base de aminoácidos e fosfito na cultura do arroz irrigado. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. v. 13. n. 2, p. 119-129, 2014.
- DREWS, T. A. **Inoculação mista com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* em cultivares de soja sob condição normal e de déficit hídrico do solo**. 2016. 61 p. (Mestrado em produção vegetal) - Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí. 2016.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v.196, p. 3–14. 2015.

FERNANDES JÚNIOR, P. ; REIS, V. M. **Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. 40 p. (Documentos 252)

FERNANDES, A. A. H.; RODRIGUES, J. D.; RODRIGUES, S. D. Ação do agrostemin sobre a altura e o número de folhas de plantas de soja (*Glicine max* L. MERRIL cv. IAC-8. **Sci. Agric.** v. 50 (1), p. 6-12, 1993.

FERREIRA, Daniel Furtado. **SISVAR 4. 3 Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2003.

FIQUENI, M. F. **Co-inoculacion en soja: Efectos sobre nodulación, crecimiento y rendimiento**. In: Quinto congreso de la soja Del mercosur, 2011, Rosário, Tecnología de cultivo, 14 - 16 sep. 2011.

GOORMACHTIG, S; CAPOEN, W.; JAMES, E. K.; HOLSTERS, M. Switch from intracellular to intercellular invasion during water stress-tolerant legume nodulation. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 101, p. 6303-6308, 2004.

GRAÇAS, J. P. et al. **Microrganismos estimulantes na agricultura**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2015. 61 p. (Série produtor rural n°59)

GROPPA, M.D.; ZAWOOZNIK, M.S.; TOMARO, M.L. Effect of co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean plants. **Eur. J. Soil. biol.** 34 (2),75-80. 1998.

HUNGRIA, M.; CAMPO R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina, Embrapa Soja, 2001. 48 p. (Circular Técnica / Embrapa Soja, ISSN 1516-7860; n.35).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium spp.* and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 811-817, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.; ARAUJO. R. S. Alternative methods of soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, p. 2329-2338, 2015.

HUNGRIA, M.; STACEY, G. Molecular signals exchange between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 519-530. 1997.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with emphasis on Brazil. **Field Crop Research**, v. 65, p. 151-164, 2000.

ILIČIĆ, R. M. The enhancement of soybean growth and yield in a field trial through introduction of mixtures of *Bradyrhizobium japonicum*, *Bacillus sp.* and *Pseudomonas chlororaphis*. **Notulae Scientia Biologicae**. v. 9 (2) p. 274-279, 2017.

LAMBAIS, G. R.; Aminoácidos **Coadjuvantes da adubação foliar e do uso do glifosato na cultura da soja**, Piracicaba: 2011; Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas), Esalq/ SP, 2011. 97 p.

LIBÓRIO, P. H. S.; BÁRBARO, I. M.; NOBILE, F. O. Co-inoculação no desenvolvimento vegetativo e nodulação de plântulas de soja submetidas à calagem, fertilização nitrogenada e aplicação de micronutrientes. **Nucleus**, v. 12 n. 2, p. 245-256, 2015.

MAGRO, M. R. et al. Resposta da cultura da soja à coinoculação, diferentes formulações e formas de inoculação. **Anais da XXVII Reunião latinoamericana de rizobiologia**. Londrina: Hotel Sumatra, 2016. p. 298.

MAGRO, M. R.; MACIEL, J. F. S. **Teste de tecnologias de inoculação da soja em colaboração com a empresa Total Biotecnologia: Relatório**. Curitiba: UFSC, 2016. 32 f. Não publicado.

MANUAL DE CALAGEM E ADUBAÇÃO. Para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. 11ª Ed. Comissão de Química e Fertilidade do Solo - RS/SC, 2016. 376p.

MARINKOVIĆ, J. et al. Effects of soybean co-inoculation with plant growth promoting rhizobacteria in field trial. **Romanian Biotechnological Letters**. 2016.

MARKS, B. B. **Ação de metabólitos secundários e de inoculantes microbianos na promoção do crescimento de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e milho (*Zea mays* L.)** 2013. 123 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná. 2013.

MÓGOR, Á. F. **Interfaces entre legislação, pesquisa científica e mercado de bioestimulantes**. In: I Simpósio Latino-americano sobre bioestimulantes na agricultura, 2017. Florianópolis, 16 - 17 nov. 2017.

MUNHOZ, A. T. **Técnicas de inoculação com bactérias de fixação de nitrogênio na cultura da soja**. 2016. 50 p. (Trabalho de conclusão de curso) – Centro de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, Santa Catarina. 2016.

NAIBO, G. **Efeito de aminoácidos e micronutrientes no tratamento de sementes sobre o desenvolvimento da soja**. In: XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 2015. Natal, 02 - 07 ago. 2015.

PASTORE, A. **Manejo de inoculação com *Bradyrhizobium* em associado ao tratamento fitossanitário das sementes**. 2016. 44 p. (Trabalho de conclusão de curso) - Universidade Federal do Paraná, Palotina, Paraná. 2016.

SANTOS, V. M.; ARAÚJO, D. K.; MARTINS, M. B. G.; CASTRO, P. R. C. Amino acids action on agrochemicals applied in soybean “BMX Potência RR”. **Journal of Agriculture and Environmental Sciences**. v. 4 n. 1, p. 198-203, 2015.

SCHÄFER, E. L. **Avaliação de microrganismos promotores de crescimento e proteção na cultura da soja (*Glycine max*)**. 2017. 40 p. (Trabalho de conclusão de curso) - Universidade Regional do Nordeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, Rio Grande do Sul. 2017.

SILVA, A. F.; FREITAS, A. D. S.; STAMFORD, N. P. Efeito da inoculação da soja (cv. Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 2, p. 1327-1333, 2002.

SON, T. T. N.; DIEP, C. N.; GIANG, T. T. M.; THU, T. T. A. Effect of co-inoculants (bradyrhizobia and phosphate solubilizing bacteria) liquid on soybean under rice based cropping system in the mekong delta. **Omonrice**. v. 15 p. 135- 143, 2007.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. Ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

ANEXO A - Localização da área experimental em Brunópolis-SC (em vermelho).



Fonte: Google Earth.

ANEXO B - Disposição dos tratamentos na área experimental.

Bloco 1	T5R1	T6R1	T2R1	T8R1	T3R1	T7R1	T4R1	T1R1
Bloco 2	T1R2	T7R2	T4R2	T3R2	T6R2	T2R2	T8R2	T5R2
Bloco 3	T8R3	T2R3	T5R3	T4R3	T7R3	T1R3	T6R3	T3R3
Bloco 4	T7R4	T1R4	T8R4	T3R4	T6R4	T5R4	T4R4	T2R4
Bloco 5	T6R5	T2R5	T4R5	T8R5	T1R5	T7R5	T3R5	T5R5

Fonte: Próprio autor.

ANEXO C - Esquema representativo de uma das parcelas experimentais do trabalho.

